

博士の学位論文審査結果の要旨

申請者氏名 神 山 玲 光
横浜市立大学大学院医学研究科 幹細胞免疫制御内科学

審 査 員

主 査	横浜市立大学大学院医学研究科教授	水 木 信 久
副 査	横浜市立大学大学院医学研究科教授	梁 明 秀
副 査	横浜市立大学大学院医学研究科准教授	山 口 由 衣

博士の学位論文審査結果の要旨

Dysfunction of TRIM21 in interferon signature of systemic lupus erythematosus

全身性エリテマトーデスのインターフェロンシグニチャーにおける TRIM21 の機能不全について

全身性エリテマトーデス (SLE) などの膠原病疾患でみられる I 型インターフェロン (IFN) の過剰産生は “IFN signature” と呼ばれ、新しい治療標的として注目される。本研究では、① I 型 IFN 産生制御における TRIM21 の役割、② 抗 TRIM21 抗体による TRIM21 機能の修飾、③ 疾患活動性と TRIM21 発現量の推移、の 3 点について検討し、I 型 IFN の発現制御に重要と考えられる IRF ファミリーを、E3 ユビキチンリガーゼを有する TRIM21 がユビキチン化することにより、SLE における IFN signature に重要な役割を担っていることを示した。

上記主論文の内容の要旨についての説明後、以下の質疑応答がなされた。

まず、梁副査より以下の質疑が行われた。

- 1) SLE と健常者では I 型 IFN の mRNA 発現量に有意差が認められないが、どう考えるか。
- 2) 抗 TRIM21 抗体の役割をどう考えているか。抗 TRIM 抗体の非存在下でも TRIM21 の機能が抑制されているように見えるが、どう考えるか。
- 3) (2 の回答を受け) 抗 TRIM21 抗体以外の別の因子として具体的に何を想定するか。

これに対し、以下の返答がなされた。

- 1) TRIM21 による I 型 IFN の mRNA 発現への発現修飾がかかっているためと思われる。実際の I 型 IFN 量の測定は、IFN α が多数のサブユニットを含むため、ELISA 等で定量化するのが困難である。そのため、本研究では I 型 IFN 誘導遺伝子群を複数測定することにより、実際機能している I 型 IFN の定量化を図った。
- 2) 健常者では TRIM21 の発現量と I 型 IFN の mRNA 発現量が負の相関を示す

のに対し、抗 TRIM21 抗体陽性の SLE 患者では両者が正の相関を示す。これは TRIM21 の機能が抗 TRIM21 抗体の存在により抑制され、I 型 IFN の発現に対する negative feedback の機能が失われていることを示している。抗 TRIM21 抗体陰性の SLE 患者では、TRIM21 と I 型 IFN の mRNA 発現量に相関は見られなかったが、健常者と比較すると TRIM21 の抗炎症作用が失われており、TRIM21 の機能抑制には抗 TRIM21 抗体以外の別の因子が存在している可能性はある。

- 3) 翻訳後修飾である、リン酸化などによる影響を考えている。今後の研究課題としていく。

次に、山口副査より以下の質疑が行われた。

- 1) SLE の皮膚病変と TRIM21・抗 TRIM21 抗体との関連性を示すデータはあるか。
- 2) TRIM21 の細胞内の動態について証明できる手段はあるか。
- 3) 今後、SLE 治療へ応用できる可能性はあるか

これに対し、以下の回答がなされた。

- 1) 本研究では皮膚病変と TRIM21 との関連性は証明できなかったが、これまでの報告から SLE 患者の皮膚病変部位の組織を生検し、表皮に TRIM21 の発現量が多いことや、紫外線や酸化ストレスによりその発現量が増加することが知られており、TRIM21 と SLE の皮膚病変との関連性を示唆している。
- 2) TRIM21 と抗 TRIM21 抗体の結合を免疫染色や免疫沈降法等により検出し、また IRF へのユビキチン化を定量することにより、両者の量的相関を証明できれば、TRIM21 の抗 TRIM21 抗体による IRF ユビキチン化能の抑制を証明できる手段となりうると考えている。
- 3) SLE 患者では TRIM21 の機能障害による IFN signature が引き起こされていることを示唆する研究結果であり、抗 TRIM21 抗体の除去等によりこれが解除できれば SLE の治療標的となりうる。

最後に、水木主査より以下の質疑が行われた。

- 1) 本研究では SLE 以外の膠原病疾患で TRIM21 の関与を検討したか。
- 2) TRIM ファミリーには TRIM21 以外にも細胞性免疫・液性免疫に関与が示唆されているが、他の TRIM ファミリーについての研究は進んでいるか。
- 3) TRIM21 の生体内での分布と、SLE や健常者における相違を検討しているか。

これに対し、以下の回答がなされた。

- 1) シェーグレン症候群では健常者と比較して TRIM21 の mRNA 発現量が多い

傾向がみられた。ベーチェット病では違いがみられなかった。しかし、比較した段階ではシェーグレン症候群患者、ベーチェット病患者の **n** は両者とも少なく、再現性や有意差については今後 **n** を増やして検討する必要がある。

- 2) 特に、**TRIM21** と非常によく似た構造を持つ **TRIM39** は、ゲノムワイド関連解析によって皮膚ループスにおける疾患感受性遺伝子の一つとして同定されているほか、ベーチェット病の疾患感受性遺伝子としても報告がある興味深い蛋白質である。**SLE** 患者において **TRIM39** の機能解析をした報告はまだない。**TRIM27** が **IRF3** をリン酸化するキナーゼ **TBK1** をユビキチン化する機能を有しており、**I** 型 **IFN** 産生制御に関わる蛋白であることが近年示されているが、こちらも **SLE** 病態への関与は不明である。今後の研究課題として検討していく予定である。
- 3) マウスを用いた実験では、**TRIM21** は全身の臓器・血球内に発現が認められ、**T** 細胞、**B** 細胞、樹状細胞、マクロファージに広く発現が認められた。臓器においては脾臓・骨髄・胸腺・リンパ節などの造血組織に分布が多い。本研究では、患者様から採取した血液検体中の単核球量の全体量が少なく、**PBMC** というくくりでの測定となったが、今後フローサイトメトリーを用い、**SLE** 患者と **HC** での **TRIM21** の分布の違いを調べていくのも機能解析の一助となると考えられる。

以上、研究内容に関する質問に対し、的確なる回答を得られた。本研究で得られた知見は、当該分野の発展に貢献したと評価し、博士の学位に値すると判断された。